



TITLE:

術後重症肝障害時における遊離型 胆汁酸測定の意義

AUTHOR(S):

内山, 和久; 小澤, 和恵; 谷村, 弘

CITATION:

内山, 和久 ...[et al]. 術後重症肝障害時における遊離型胆汁酸測定の意義
. 日本外科宝函 1988, 57(4): 293-301

ISSUE DATE:

1988-07-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/203962>

RIGHT:

術後重症肝障害時における遊離型胆汁酸測定の意義

京都大学第二外科

内 山 和 久, 小 澤 和 恵

和歌山県立医科大学消化器外科

谷 村 弘

〔原稿受付：昭和63年3月16日〕

Significance of Serum Free Form Bile Acid Level in Pre-Hepatic Failure after Surgery

KAZUHISA UCHIYAMA, HIROSHI TANIMURA and KAZUE OZAWA

Second Department of Surgery, Kyoto University School of Medicine, Kyoto, Japan

Department of Gastroenterological Surgery, Wakayama Medical College,
Wakayama, Japan

For estimating from serum bile acid level at the period of pre-hepatic failure, four patients after hepatectomy and one patient after esophageal varicectomy were followed up within six months as a result of the hepatic failure. The peripheral blood samples were taken for bile acid level and other biochemical evaluation of the liver functional status for the period of 47 days every day. Total bile acid (TBA) level in serum was rapidly increasing up to $162.3 \mu\text{mol/l}$ 7-15 days before death and free form bile acid/TBA (F/TBA) ratio was more over 70%, although there was little free form bile acid (below 10%) in health subjects. Thus, it indicates that free form bile acid level prior hepatic failure was higher than that in the uneventful group and more over 70% of F/TBA ratio have the unfortunately course.

は じ め に

術後重症肝障害（肝不全）に対する明確な定義はなく、漠然と術後高度の黄疸の状態を示すことが多い。昏睡に陥る前に対処するための血中指標としては、血清総ビリルビン（T.Bil）、プロトロンビン時間（PT）、血中アンモニア等が用いられている。しかし T.Bil の

みでは術後良性の一過性黄疸および閉塞性黄疸のほとんどが肝不全との鑑別ができない点に問題があり、また PT も血液凝固能障害による出血傾向の出現時には肝不全も末期となっており、すでに多臓器不全(MOF)に陥っている可能性がある。同様のことは血中アンモニアについてもいえることで、必ずしも重症度とは一致しない。したがって、もっと鋭敏な変動を示し、正

key words: Bile acid, Free form bile acid, Blood ketone body ratio, Hepatic failure, HPLC.

索引用語：胆汁酸，遊離型胆汁酸，血中ケトン体比，肝不全，高速液体クロマトグラフィー

Present address: Department of Gastroenterological Surgery, Wakayama Medical College, Wakayama, Japan.

確な病態の早期把握が可能な別の指標が求められてきた。

一方、肝臓で生合成され、抱合後胆汁に分泌され、腸肝循環という半閉鎖的回路で門脈から肝に再摂取される胆汁酸を末梢血中に促えて、その動態を知ること、は、肝代謝のみならず、他の消化器疾患の病態をも推測する上で、重要な臨床病理的意義を有することが以前より指摘されてきた⁹⁾。しかし臨床的に繁用されている現在のキットを用いた酵素法による血清総胆汁酸測定は、正確さに欠けており、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) の特性を応用して、さらに抱合型および一次・二次胆汁酸分画に分けて測定する必要がある。しかも UV 測定では遊離型胆汁酸に対する感度が低いので¹⁰⁾、血清遊離胆汁酸の測定には3 α -HSD 酵素を用いて NAD⁺ を蛍光で検出する酵素蛍光法を用いる HPLC 法が選択されるべきである。我々はこの方法を応用し、実験動物および臨床例における胆汁中・血清胆汁酸を測定してきた。今回術後肝不全に陥った5例について血清胆汁酸を経日的に追跡した結果、死亡前に遊離型胆汁酸 (F) が特徴的な変動を示し、遊離型の総胆汁酸に対する比率 (F/TBA) の上昇が肝不全と深く関連することが判明した。

対象と方法

対象は胆嚢癌や肝癌に対しての肝切除術後、32日～6ヶ月目に肝不全に陥った4症例と、食道静脈瘤に対

して緊急手術後8日目に死亡した1例、計5症例である (表1)。なお症例3, 4, 5, は肝硬変を合併していた。死亡にいたる前の8～24日間、連日早朝空腹時に末梢静脈血を採取し、血清分離後、測定まで -20℃ にて凍結保存した。胆汁酸の測定には、血清 1 ml ないし胆汁 200 μ l を Sep-Pak C18 処理にて抽出し、PHP-LH20Gel で遊離型 (F), グリシン抱合型 (G), タウリン抱合型 (T), および硫酸抱合型 (S) の4分画に分離し、S にはさらに solvolysis を施した後、それぞれを 10 μ l HPLC に注入し、ウルソデオキシコール酸 (UDCA), コール酸 (CA), ケノデオキシコール酸 (CDCA), デオキシコール酸 (DCA), リトコール酸 (LCA) の各5種、計20分画に分離定量した。HPLC 分析には、3 α -HSD 固定化酵素カラムと、逆相式分離カラム (Zorbax C8) を装着した島津製作所 LC-3A・5A 型ポンプ、および島津 RF 530 型蛍光検出器を用いた。その分析条件の詳細については既報の通りである¹¹⁾。

我々の測定では、健康人の血清総胆汁酸値 (TBA) は $2.42 \pm 1.22 \mu\text{mol/l}$ (12例平均)、胆汁中総胆汁酸濃度は $48.6 \pm 39.2 \mu\text{mol/ml}$ (胆管結石術後 Ttube 挿入8例平均) であった。その分画については、健康人血清では、一次胆汁酸である CA と CDCA が60～80%を占め、その比 C/CDC は 0.76 ± 0.22 であった。大部分は抱合型であり、中でも G が主で、T との比 G/T は、 3.42 ± 1.26 であった。F および S は、健康人では少なく、F/TBA, S/TBA は各10%以下であっ

表1 症 例 一 覧

症例	年齢, 性別	術前診断	K _{ICG}	肝硬変	施行手術	転帰(死因)
1	68 F	胆嚢癌	0.22	(-)	臍頭十二指腸切除 肝右葉切除 横行結腸切除	術後6ヶ月 (肝不全)
2	53 M	胆嚢癌	0.12	(-)	臍頭十二指腸切除 肝拡大右葉切除 結腸部分切除	術後41日 (肝不全)
3	73 M	肝 癌 肝硬変 食道静脈瘤	0.07	(+)	肝拡大右葉切除	術後32日 (肝不全)
4	60 M	肝 癌 食道静脈瘤 肝硬変 糖尿病	0.06	(+)	肝部分切除	術後46日 (肝不全)
5	69 M	肝硬変 食道静脈瘤 (硬化療法2回)	不明	(+)	脾摘, 胃周囲血管 郭清 (緊急)	術後8日 (肝不全)

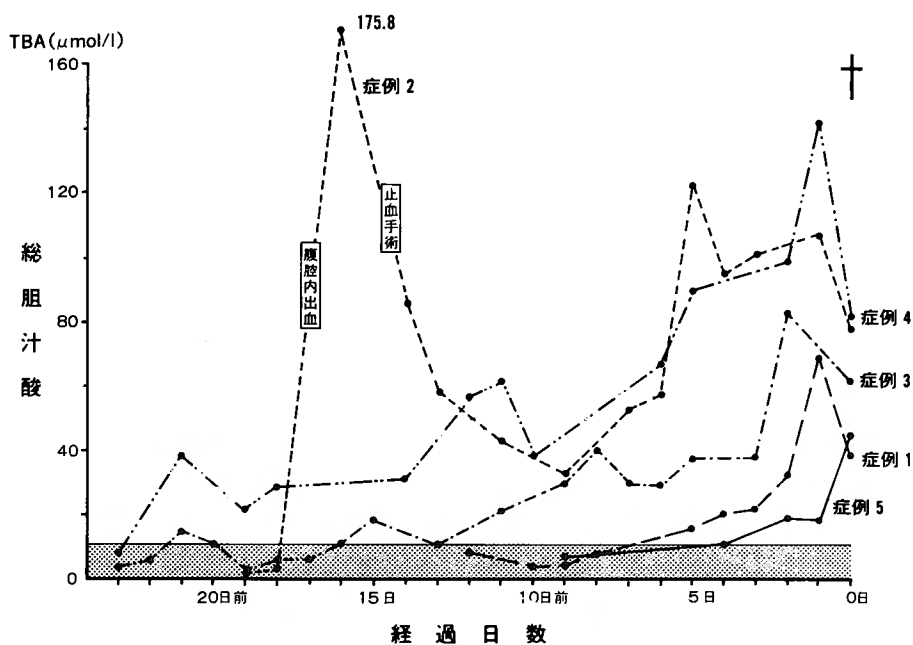


図1 各症例における死亡前の血清総胆汁酸 (TBA) の変動。

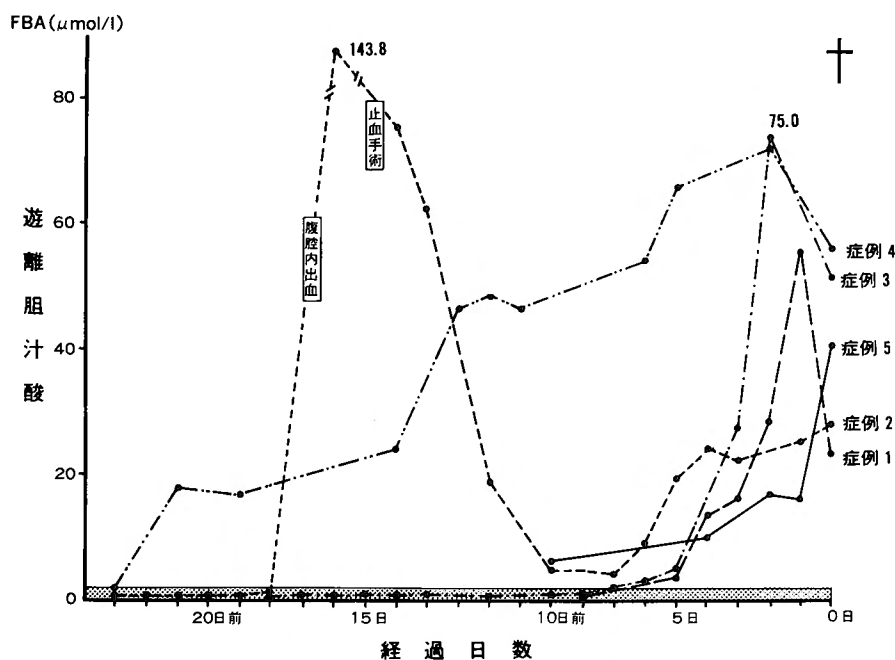


図2 各症例における血清遊離型胆汁酸 (F) の変動。

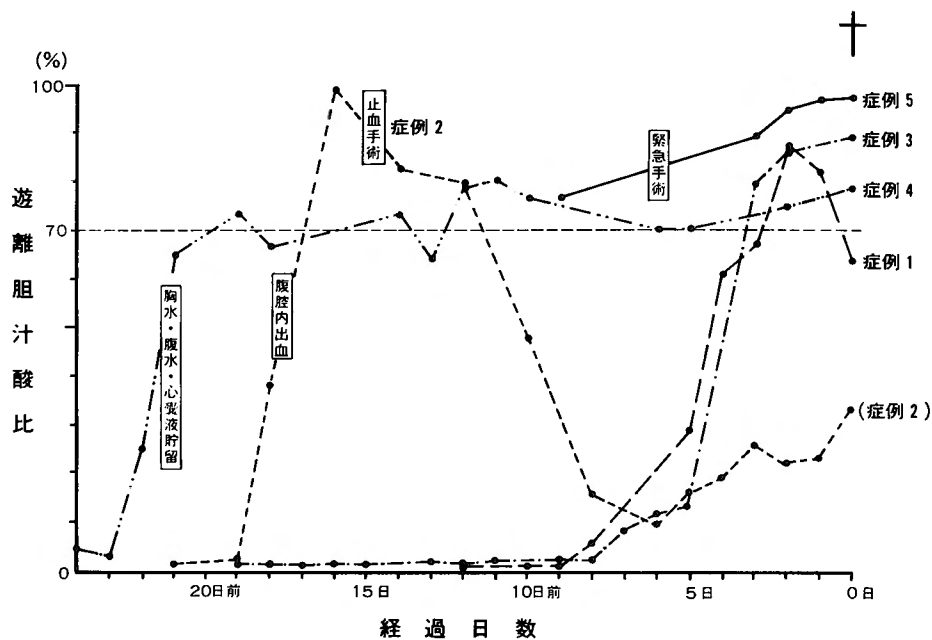


図3 各症例における TBA に占める F の割合 (F/TBA) を血清遊離胆汁酸比率とし、その変動を示す。

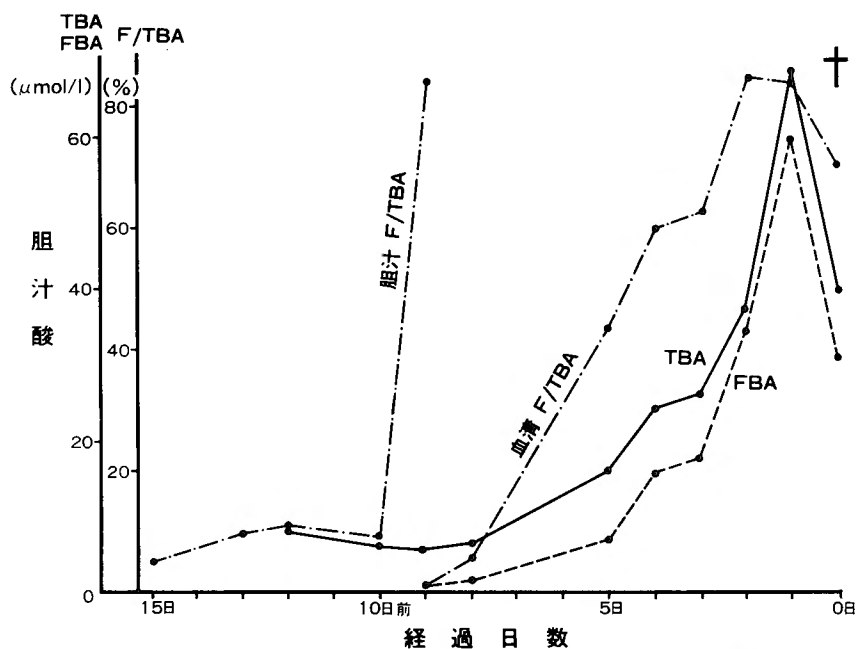


図4 症例1における血清 TBA, FBA, F/TBA, 胆汁 F/TBA の変動

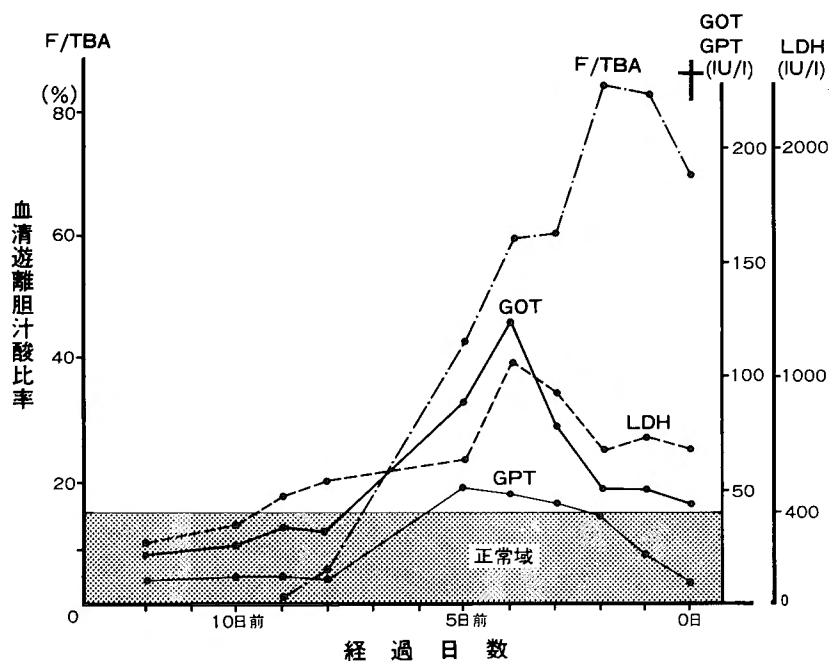


図5 症例1における F/TBA, GOT, GPT, LDH の比較

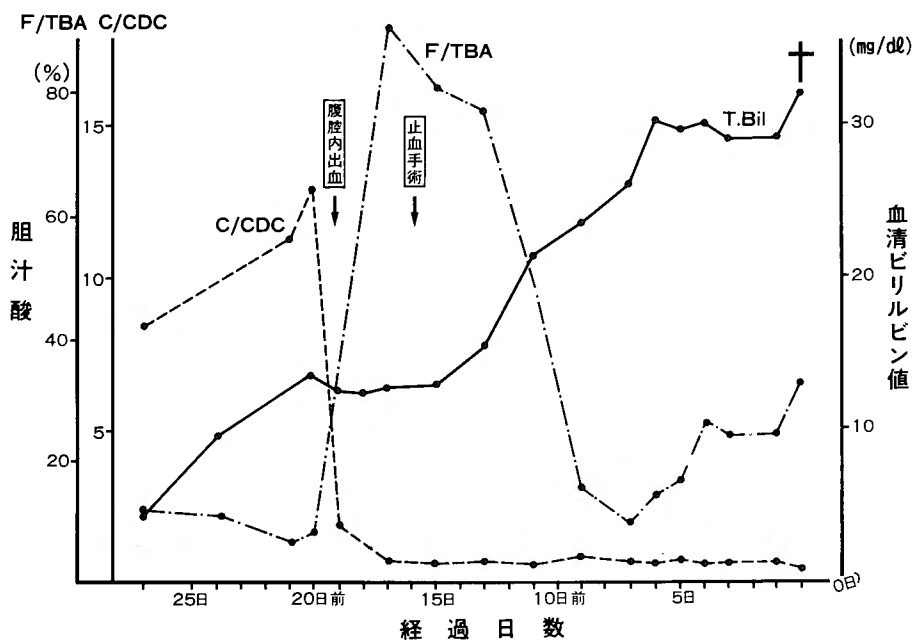


図6 症例2における C/CDC, F/TBA と T.Bil の比較

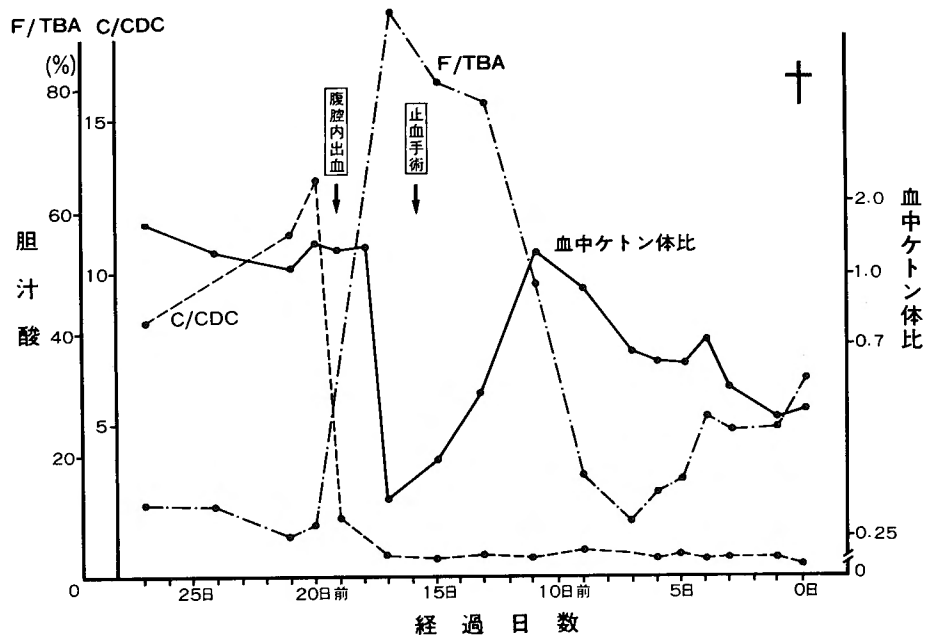


図7 症例2における C/CDC, F/TBA と血中ケトン体比の比較

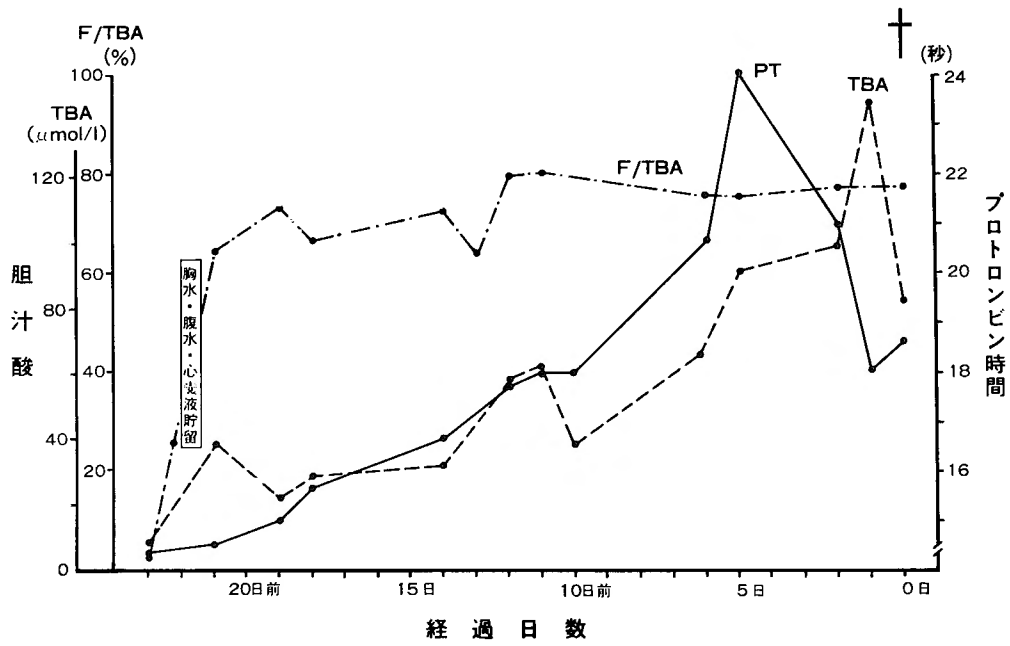


図8 症例4における F/TBA, TBA, と PT の比較

た。

結 果

1) 血清総胆汁酸 (TBA) の肝不全時の変動を示す (図1)。全例 1.8~4.6 $\mu\text{mol/l}$ の正常域から急激に増加し、4 ないし10日後には 40.4~143.8 $\mu\text{mol/l}$ となり死亡した。症例2の16日前の 175.8 $\mu\text{mol/l}$ と急上昇したのは、その前日に 30,000 ml に及ぶ腹腔内出血を認め、一時的に肝虚血に陥った際のものであり、止血操作により一旦 36.2 $\mu\text{mol/l}$ まで低下した。

2) 血清遊離型胆汁酸(F)の変動を示すと (図2), 0.5 $\mu\text{mol/l}$ 以下と低値であったのが、肝障害が高度になるにしたがって上昇し、37.6~75.0 $\mu\text{mol/l}$ の最高値を示した後死亡した。なかでも4例が6日前後より急上昇しているのが特徴的である。

3) TBA に占める F の割合 (F/TBA) を遊離胆汁酸比率として示す (図3) と、いずれも死亡前3~4日前には70%を越えていることが判明した。具体的に症例1における血清 TBA, FBA, F/TBA, 胆汁中 F/TBA の変化を示す (図4) と、F/TBA の上昇が血清よりも早く、86%に達していることが特徴的であった。以上より、各胆汁酸パラメーターを指標として検討した結果、血清遊離胆汁酸比率 (F/TBA) が最もよく肝機能不全の重症度を反映していると考えられた。

4) この F/TBA と一般肝機能検査値を比較した。まず GOT, GPT, LDH について症例1で検討した (図5)。死亡4~6日前に GOT 122, GPT 49, LDH 1053 と軽度上昇したとはいえ、その後はかえて正常域近くまで低下しており、この数値から死を予想することは不能であった。次に、症例2において血清 F/TBA と T.Bil の変化を比較した (図6)。30,000 ml の腹腔内出血に伴う肝虚血に対し、F/TBA は急激な上昇が認められたが、T.Bil は急変動を示さず、鋭敏さに欠けた。また、従来より一般に肝硬変、胆汁うっ滞、急性肝細胞障害時の血中胆汁酸値の指標とされてきた C/CDC は、高値より急激に低下し、止血回復後も0.3以下と低値のまま経過した。

5) 我々は肝ミトコンドリアのアセト酢酸/ β -ヒドロキシ酪酸の血中放出を血中ケトン体比として測定し、肝予備能判定の指標の1つとしてきたが、血清胆汁酸の上昇と血中ケトン体比の低下とはよく相関し、F/TBA とは最もよく逆相関することが判明した (図7)。

6) 肝機能不全に伴う血液凝固能の低下の指標として、プロトロンビン時間 (PT) と TBA, F/TBA との

関連を示す (図8)。症例4において、PT は23日前の14.3秒から5日前に24.2秒と次第に延長し、血清TBA も平行して上昇した。しかし胸水、腹水、心嚢液が貯留し始め、昏睡に陥り始めた時 (死亡21日前) に、すでに F/TBA は64%であり、この時点で経過不良であることを示唆していた。

考 察

胆汁酸は、肝でコレステロールより生合成される異化代謝産物で、肝ミトコンドリア、ミクロゾームにてステロイド環の一連の変化を受け、側鎖の酸化により、一次胆汁酸とよばれる遊離型の CA, CDCA が生合成され、直ちにグリシンまたはタウリンとアミノ酸抱合される。この抱合型一次胆汁酸は、毛細胆管内に分泌後、肝胆汁の主成分となる。腸管内に排出されると、腸内常在菌により脱抱合され、一部はステロイド環の7 α -OH の脱水酸化を受け、CA は DCA へ、CDCA は LCA へとそれぞれ二次胆汁酸に変換される。胆汁酸は、70~80%が回腸末端にて能動輸送で、10~20%が大腸より受動輸送で効率よく再吸収され、門脈を経由して肝に取り込まれる。そして再び肝から胆道内に排出されるという半閉鎖的な腸肝循環を行っている³⁾。

門脈血中の胆汁酸が肝細胞に摂取され、胆汁として分泌される機序については、①肝細胞膜における門脈血中からの胆汁酸摂取相、②肝細胞内移動相、③胆管内排泄相、の3相に分けて説明されている¹³⁾。今回、重篤な肝機能不全状態における血清胆汁酸の変動を検討した結果から、遊離型を主とする胆汁酸の急速な増加は、肝細胞膜における門脈血中からの能動的な胆汁酸摂取目に障害を来したと考え、容易に理解できる。胆汁酸の肝細胞内への摂取機構については、Schwarz らにより、分離肝細胞およびラット灌流肝を用いた実験結果に示されている。すなわち、肝細胞膜から肝ミトコンドリアで生成される $\text{Na}^+ - \text{K}^+ \text{ATPase}$ の作用によって、一旦放出された Na^+ と、陰イオンに荷電した胆汁酸が coupling し、共役反応して細胞内に能動的に摂取されることが証明されている¹²⁾。Alan らは、劇症肝炎時の血中総胆汁酸の上昇の機序について、in vitro でミトコンドリア活性低下により ATP 生成能が低くなると、 Na ポンプが機能不全となり、胆汁酸の肝細胞内摂取が不能になるためと説明している⁹⁾。このことは、症例2で、胆汁酸の指標である F/TBA の上昇時には、肝ミトコンドリア活性を最も的確に示すといわれる血中ケトン体比が鏡面像を呈

して低下していることによっても説明できる (図7)。

末期に上昇した血清胆汁酸のうち、主たるものは遊離型であり、このことは単純には、肝ミクロゾームのグリシン、タウリンとの抱合能の低下が主因と考えられ、症例1において血清に F/TBA の上昇する直前に、胆汁中に F/TBA の変化が認められた点から推察できる (図4)。胆汁中胆汁酸については、健常人の胆汁中では、血清の約10,000倍以上の濃度があるが、肝機能低下に伴って生合成能力は低下し、肝不全期には血清よりも胆汁酸濃度は低くなり、その60~70%を遊離型が占めるようになる¹⁴⁾。Blum らは、標識した ¹⁴C-CA を静注し、60分後に血清 CA 値が、健常人では95%が抱合型であったが、肝硬変例では57%しかなく、肝機能低下例では遊離型胆汁酸の占める割合が高いと報告し²⁾、Horak らも劇症肝炎例に同様に標識した ¹⁴C-CA を静注し、3時間後の血清 CA 値における抱合型の占める割合は、生存例では73%であったに對し、死亡例では42%と低下しており、遊離胆汁酸の占める割合が2倍にも増加することを指摘し、遊離型の増加は予後判定に有用と述べている⁶⁾。

しかし、King らは、死亡直前は subileus の状態にあり、小腸内で *E.coli*, *B.fragilis*, *C.perfringens* などの腸内細菌が異常繁殖した状態となり、抱合型胆汁酸が大量に脱抱合され、さらに 7α -脱水酸化されると報告しており⁸⁾、この状態では、門脈血内胆汁酸は大部分が遊離型で、それが肝内で portal-systemic shunt を通って末梢血内遊離型が漏出する可能性も否定できない。

他方、遊離型は抱合型に比べてより強い cytotoxic effect を持つことが知られている。Keane らのリンパ球を用いた実験では、遊離型胆汁酸を添加すると、リンパ球内のミトコンドリアの crista の破壊をはじめとする細胞内小器官に著しい変化が観察され、遊離型の中でもとくに CDCA が最も強い組織破壊力を持っている⁷⁾。Fisher らによると、ラットを用いた摘出灌流肝で、遊離型 CDCA を灌流液中に添加すると、ミクロゾームやミトコンドリアが腫大し、やがて壊死に陥り、肝内 ATP 量が著明に減少したが、CA を同時に灌流液に加えると、この遊離型 CDCA による肝障害は阻止されたという⁴⁾。我々は、肝切除術後の予後判定の因子として、経日的に血清胆汁酸を測定したところ、術後早期には、経過良好例の胆汁酸組成は CA が主成分になるが、不良例では、TBA に対する遊離型 CDCA の割合が上昇することを指摘してきた¹⁵⁾。

このように遊離型胆汁酸、とくに CDCA, LCA は、各種臓器に toxic effect を持つことが明らかであるが、この主な機序としては、Lack らによると、遊離型は抱合型に比べてそのイオン強度の差異から各組織の細胞膜の tight junction から内部に侵入しやすく、直接ミトコンドリアなどの細胞内小器官に作用し、detergent 作用を示すと考えられる⁹⁾。

以上を総括すると、胆汁酸の血中肝機能指標については、従来より C/CDC が注目されてきたが、今回術後肝不全期症例について、血清および胆汁中胆汁酸を追跡したところ、肝ミトコンドリアでのグリシン、タウリン抱合能力が低下すると、胆汁中に遊離型胆汁酸の占める割合が高くなり、腸肝循環によって門脈血中に戻っても、肝不全状態では、ミトコンドリア機能低下に伴う ATP 生成能が低下し、肝細胞での胆汁酸の能動的な摂取が不能となり、portal-systemic shunt を通じて末梢血中に遊離型主体の胆汁酸が漏出する。この遊離型の上昇は、その cytotoxic 作用により多臓器障害の原因となり、一種の悪性サイクルを形成し、死を早めると考えられる。したがって、今後遊離型の増加時期に注目し、血漿交換、さらに症例によっては肝移植などの適応判定としての新しい指標になるものといえる。

結 語

術後重症肝障害に陥った症例の血清および胆汁中胆汁酸の変動を検討し、以下の結論を得た。

1. 血清総胆汁酸、遊離胆汁酸および遊離胆汁酸比率は、いずれも肝障害の重篤化とともに著しく上昇する。
2. このうち遊離胆汁酸比率が最も早く上昇し、70%を越えると極めて予後不良である。
3. 一般肝機能検査 (GOT, GPT, LDH, T.Bil, PT) と比較して、重症肝障害時には、遊離胆汁酸比率はより鋭敏な指標である。

なお、本論文の要旨は、第28回消化器病学会にて発表した。また本研究の一部は、郵政省研究補助金によって行われたことを付記し感謝します。

文 献

- 1) Alam AN, Wilkinson SP, Poston L, et al: Intracellular electrolyte abnormalities in fulminant hepatic failure. *Gastroenterol* 72: 914-917, 1977.
- 2) Blum M, Spititz N: The metabolism in intra-

- venously injected isotopic cholic acid in Laennec's cirrhosis. *J Clin Invest* **45**: 187-193, 1966.
- 3) Donald MS, Rovert HD, Richard N, et al: The enterohepatic circulation of bile salts. *Arch Intern Med* **130**: 552-573, 1972.
- 4) Fisher MM, Bloxam DL, Phillips MJ, et al: Characterization of rat liver all plasma membranes. *Proc Soc Exper Biol Med* **150**: 177-184, 1975.
- 5) Hofmann AF, Milanese M, Beiforte G: Description and simulation of a physiological pharmacokinetic model for the metabolism and enterohepatic circulation of bile acids in man. *J Clin Invest* **71**: 1003-1022, 1983.
- 6) Horak W, Waldram R, Murray-Lyon IM, et al: Kinetics of [^{14}C] cholic acid in fulminant hepatic failure "A prognostic test". *Gastroenterol* **71**: 809-813, 1976.
- 7) Keane RM, Gadacz TR, Muster AM, et al: Impairment of human lymphocyte function by bile salts. *Surgery* **95**: 439-443, 1984.
- 8) King CE, Toskes PP: Small intestine bacterial overgrowth. *Gastroenterol* **76**: 1035-1055, 1979.
- 9) Lack L: Bile salt transport system. The Bile Acids, Chemistry, Physiology and Metabolism. p 33 vol. 2, edited by Nain PP and Krichivsky I, Plenum Press, New York, 1973.
- 10) Maruyama K, Tanimura H, Hikasa Y: Analysis of conjugated bile acids in bile by high-pressure liquid chromatography. *Clinica Chimica Acta* **100**: 47-54, 1980.
- 11) Saito T: The preventive effect of vitamin E on gallstone formation. *Arch Jpn Chir* **56**: 247-261, 1987.
- 12) Schwarz LR, Burr R, Schwenk M, et al: Uptake of taurocholic acid into isolated rat-liver cells. *Eur J Biochem* **55**: 617-623, 1975.
- 13) Skerde S, Solberg HE, Blomhoff JP: Bile acids measured in serum during fasting as a test for liver disease. *Clin Chem* **24**: 1095-1099, 1978.
- 14) 内山和久, 谷村 弘, 小澤和恵: 閉塞性肝障害と胆汁酸代謝. *通信医学* **39**: 737-740, 1987.
- 15) 内山和久, 谷村 弘, 小澤和恵, 他: 肝切除術後管理における血清および胆汁中胆汁酸の意義. *日消外会誌* **20**: 333, 1987.